

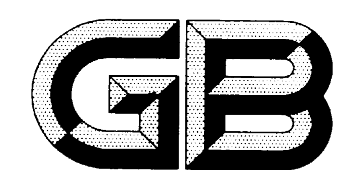
EDICT OF GOVERNMENT

GB 5009-88 (2012) (Chinese): Determination of dietary fiber in foods



BLANK PAGE





中华人民共和国国家标准

GB 5009.88—xxxx

食品安全国家标准
食品中膳食纤维的测定

xxxx-xx-xx 发布　　xxxx-xx-xx 实施

中华人民共和国卫生部　发布

前　　言

本标准代替GB/T 5009.88-2008《食品中膳食纤维的测定》。

本标准与GB GB/T 5009.88-2008相比，主要变化如下：

——修改了方法适用范围；

——增加了膳食纤维、总膳食纤维、不溶性膳食纤维、可溶性膳食纤维的术语和定义；

——修改了试剂顺序和文字格式；

——修改了总膳食纤维计算公式；

——添加了当食品中含有低分子质量可溶性膳食纤维时总膳食纤维计算方法的注释；

——将酶重量法作为第一法，中性洗涤剂法作为第二法。

食品安全国家标准
食品中膳食纤维的测定

1 范围

本标准规定了食品中膳食纤维的测定方法。

本标准酶重量法适用于植物类食品及其制品中总的、可溶性和不溶性膳食纤维的测定；中性洗涤剂法适用于谷物原料中不溶性膳食纤维的测定。

本标准第一法为仲裁法。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1 膳食纤维 dietary fiber

指植物中天然存在的、提取或合成的、聚合度 DP≥3 的碳水化合物聚合物，不能被人体小肠消化吸收、对人体有健康意义，包括纤维素、半纤维素、木质素、果胶、菊粉及其他一些膳食纤维单体成分等。

2.2 可溶性膳食纤维 Soluble Dietary Fiber

指能溶于水的膳食纤维部分。

2.3 不溶性膳食纤维 Insoluble Dietary Fiber

指不能溶于水的膳食纤维部分，包括木质素、纤维素、部分半纤维素等。

2.4 总膳食纤维 Total Dietary Fiber

可溶性膳食纤维与不溶性膳食纤维之和。

第一法 总的、可溶性和不溶性膳食纤维的测定（酶重量法）

3 原理

干燥试样经热稳定 α-淀粉酶、蛋白酶和葡萄糖苷酶酶解消化去除蛋白质和淀粉后，酶解液经乙醇沉淀、过滤，残渣用乙醇和丙酮洗涤，干燥后称重，即为总膳食纤维残渣。另取同样经酶解的酶解液直接过滤，用热水洗涤残渣，干燥后称重，即得不溶性膳食纤维残渣；滤液用 4 倍体积的 95%乙醇沉淀、过滤、干燥后称重，得可溶性膳食纤维残渣。扣除残渣中相应的蛋白质、灰分和空白即可计算出试样中总的、不溶性和可溶性膳食纤维的含量。

采用酶重量法测定的总膳食纤维包括不溶性膳食纤维和能被乙醇沉淀的高分子质量可溶性膳食纤维，如纤维素、半纤维素、果胶、其它非淀粉多糖及木质素等；不包括低分子质量的可溶性膳食纤维，如抗性麦芽糊精、果寡糖、低聚半乳糖、多聚葡萄糖等，及部分被加热破坏的抗性淀粉。

4 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的二级水。

4.1 试剂

4.1.1 95%乙醇（CH_3CH_2OH）。
4.1.2 丙酮（CH_3COCH_3）。
4.1.3 石油醚：沸程 30℃～60℃。
4.1.4 氢氧化钠（NaOH）。
4.1.5 重铬酸钾（$K_2Cr_2O_7$）。
4.1.6 三羟甲基氨基甲烷（$C_4H_{11}NO_3$，TRIS）。
4.1.7 2-(N-吗啉代)乙烷磺酸（$C_6H_{13}NO_4S·H_2O$，MES）。
4.1.8 冰乙酸（$C_2H_4O_2$）。
4.1.9 盐酸（HCl）。
4.1.10 热稳定 α-淀粉酶液：CAS9000-85-5，IUB3.2.1.1，不得含丙三醇稳定剂，于 0℃～5℃冰箱储存，酶的活性测定及判定标准应符合附录 A 的要求。
4.1.11 蛋白酶：CAS 9014-01-1，IUB3.2.21.14，不得含丙三醇稳定剂。酶的活性测定及判定标准应符合附录 A 的要求。
4.1.12 淀粉葡萄糖苷酶液：于 0℃～5℃储存。酶的活性测定及判定标准应符合附录 A 的要求。
4.1.13 硅藻土：CAS 688 55-54-9。
4.1.14 溴甲酚绿（$C_{21}H_{14}O_5Br_4S$）。

4.2 试剂配制

4.2.1 85%乙醇溶液：取 895 mL 95%乙醇，用水稀释并定容至 1 L，混匀。
4.2.2 78%乙醇溶液：取 821 mL 95%乙醇，用水稀释并定容至 1 L，，混匀。
4.2.3 0.05 mol/L MES-TRIS 缓冲液：称取 19.52 g MES 和 12.2 g TRIS，用 1.7 L 蒸馏水溶解，用 6 mol/L 氢氧化钠调 pH 至 8.2，加水稀释至 2 L。

注 1：一定要根据温度调 pH：24℃时调 pH 为 8.2；20℃时调 pH 为 8.3；28℃时调 pH 为 8.1；20℃和 28℃之间的偏差，用插入法校正。

4.2.4 蛋白酶溶液：用 0.05 mol/L MES-TRIS 缓冲液配成浓度为 50 mg/mL 的蛋白酶溶液，现用现配，使用前于 0 ℃～5 ℃储存。
4.2.5 酸洗硅藻土：取 200 g 硅藻土于 600 mL 的 2 mol/L 盐酸中，浸泡过夜，过滤，用蒸馏水洗至滤液为中性，置于 525 ℃±5 ℃马福炉中灼烧灰分后备用。
4.2.6 重铬酸钾洗液：称取 100 g 重铬酸钾，用 200 mL 蒸馏水溶解，加入 1800 mL 浓硫酸混合。
4.2.7 3mol/L 乙酸溶液：取 172 mL 乙酸，加入 700 mL 水，混匀后用水定容至 1 L。
4.2.8 0.4g/L 溴甲酚绿溶液：称取 0.1 g 溴甲酚绿于研钵中，加 1.4 mL 0.1 mol/L 氢氧化钠研磨，加少许水继续研磨，直至完全溶解，用水稀释至 250 mL。

5 仪器和设备

5.1 高型无导流口烧杯：400 mL 或 600 mL。
5.2 坩埚：具粗面烧结玻璃板，孔径 40 ～ 60 μm。清洗后的坩埚在马福炉中 525 ℃灰化 6 h，炉温降至 130 ℃以下取出，于重铬酸钾洗液中室温浸泡 2 h，分别用水和蒸馏水冲洗干净，最后用 15 mL 丙酮冲洗后风干。用前，加入约 1.0 g 硅藻土，130 ℃烘至恒重。取出坩埚，在干燥器中冷却约 1 h，称重，记录坩埚加硅藻土重量，精确到 0.1 mg。
5.3 真空过滤装置：真空泵或有调节装置的抽吸器。1 L 抽滤瓶，侧壁有抽滤口，带与抽滤瓶配套的橡胶塞，用于酶解液抽滤。

5.4　恒温振荡水浴箱：带自动计时器，控温范围在室温+5 ℃～100 ℃，温度波动±1 ℃。

5.5　分析天平：感量 0.1 mg。

5.6　马弗炉：525 ℃±5℃。

5.7　烘箱：105℃，130 ℃±3℃。

5.8　干燥器：二氧化硅或同等的干燥剂。干燥剂每两周 130℃烘干过夜一次。

5.9　pH 计：具有温度补偿功能，精度±0.1。用前用 pH 4.0、7.0 和 10.0 标准缓冲液校正。

5.10　真空干燥箱。

5.11　冷冻干燥箱。必要时。

5.12　筛：筛板孔径 0.3 mm～0.5 mm。

6　分析步骤

6.1　试样制备

6.1.1　脂肪含量小于 10%的食品

若试样水分含量较低（小于 10%），直接混匀粉碎过筛。若试样水分含量较高，将试样混匀后于 70℃真空干燥过夜，然后置干燥器中冷却，干样粉碎后过 0.3 mm～0.5 mm 筛。若试样不能加热，则采取冷冻干燥法，再粉碎过筛，干样存放于干燥器中待用。记录因干燥造成的试样损失，最后在计算膳食纤维含量时进行校正。

6.1.2　脂肪含量大于 10%的食品

因试样难于粉碎，可先用石油醚脱脂后再干燥粉碎。按每克试样 25 mL 石油醚的比例进行脱脂处理，连续 3 次，脱脂后试样混匀后按 6.1.1 干燥、粉碎、过筛，干样存放于干燥器中待用。记录由石油醚脱脂、干燥造成的试样损失，最后计算膳食纤维含量时进行校正。

注 2：若试样脂肪含量未知，按先脱脂再干燥粉碎方法处理。

6.1.3　含糖量高的食品

取适量试样，按每克试样加 10 mL 85％乙醇的比例进行脱糖处理，2～3 次，于 40℃下干燥过夜，粉碎过筛后的干样存放于干燥器中待用。记录由乙醇脱糖、干燥造成的试样损失，最后计算膳食纤维含量时进行校正。

6.2　酶解

6.2.1　准确称取双份试样（M_1 和 M_2）各 1 g，精确到 0.1 mg，双份试样质量差≤0.005 g, 置于 400 mL 或 600 mL 高脚烧杯中，同时制备 2 个空白样用于校正试剂对测定的影响。加入 0.05 mol/L MES-TRIS 缓冲液 40 mL，用磁力搅拌直至试样完全分散在缓冲液中。

注 3：避免形成团块，防止试样和酶不能充分接触。

6.2.2　热稳定 α-淀粉酶酶解：加 50 μL 热稳定 α-淀粉酶液缓慢搅拌，然后加盖铝箔，置于 95℃～100℃的恒温振荡水浴箱中持续振摇，当温度升至 95℃开始计时，通常反应 35 min。将烧杯取出，冷却至 60℃，打开铝箔盖，用刮勺将烧杯内壁的环状物以及烧杯底部的胶状物刮下，用 10 mL 蒸馏水冲洗烧杯壁和刮勺。

注 4：如需完全破坏抗性淀粉，热稳定 α-淀粉酶酶解时间可延长至 90min，必要时加入 10～15mL 二甲基亚砜帮助淀粉分散。

6.2.3　蛋白酶酶解：向每个烧杯加入 100 μL 蛋白酶溶液，盖上铝箔，置于 60 ℃±1 ℃水浴中持续振摇，当水温达 60℃时开始计时，反应 30 min。打开铝箔盖，边搅拌边加入 5 mL 3 mol/L 乙酸溶液，控制试样温度保持在 60℃，用 1 mol/L 氢氧化钠溶液或 1 mol/L 盐酸溶液调 pH 至 4.5±0.2（用 pH 计或以 0.4 g/L 溴甲酚绿为外指示剂）。

注 4：一定要在 60℃时调 pH，因为温度降低会使 pH 升高。要常规进行空白样的 pH 测定，若所测值超出要求范围，必须同时检查试样酶解液的 pH 是否合适并作调节。

6.2.4　淀粉葡糖苷酶酶解：边搅拌边加入 100 μL 淀粉葡萄糖苷酶液，盖上铝箔，继续于 60 ℃±1 ℃水浴中持续振摇，当水温到 60℃时计时反应 30 min。

6.3　测定

6.3.1　总膳食纤维（TDF）测定

6.3.1.1　沉淀：在每份试样酶解液中，按乙醇与样液体积比 4∶1 加入预热至 60℃±1 ℃的 95%乙醇（预热后体积约为 225mL），取出烧杯，盖上铝箔，室温下沉淀 1h。

6.3.1.2　过滤：取已加入硅藻土并干燥称重的坩埚，用 15 mL 78%乙醇润湿硅藻土并展平，接上真空过滤装置，抽去乙醇使坩埚中硅藻土平铺于滤板上。将经乙醇沉淀的试样酶解液转移入坩埚中过滤，用刮勺和 78%乙醇将所有残渣转至坩埚中。

6.3.1.3　洗涤：分别用 78% 乙醇、95% 乙醇和丙酮 15 mL 洗涤残渣各 2 次，抽滤去除洗涤液后，将坩埚连同残渣在 105℃烘干过夜。将坩埚置干燥器中冷却 1 h，称重（包括坩埚、膳食纤维残渣和硅藻土），精确至 0.1 mg。减去坩埚和硅藻土的干重，计算残渣质量。

6.3.1.4　蛋白质和灰分的测定：取 2 份试样残渣中的 1 份按 GB 5009.5-2010 测定氮（N）含量，以 6.25 为换算系数，计算蛋白质质量（N×6.25）；另 1 份按 GB 5009.4-2010 测定灰分，即在 525℃灰化 5 h，于干燥器中冷却，精确称量坩埚总重（精确至 0.1 mg），减去坩埚和硅藻土质量，计算灰分质量。

6.3.2　不溶性膳食纤维（IDF）测定

6.3.2.1　按 6.1 称取试样、按 6.2 酶解。

6.3.2.2　过滤洗涤：取已加入硅藻土并干燥称重的坩埚，用 3mL 水润湿硅藻土并展平，抽去水分使坩埚中的硅藻土平铺于滤板上。将试样酶解液全部转移至坩埚中过滤，残渣用 70℃热蒸馏水 10 mL 洗涤 2 次，合并滤液，转移至另一 600 mL 高脚烧杯中，备测可溶性膳食纤维。残渣按 6.3.1.3 洗涤、干燥、称重，记录残渣重量。

6.3.2.3　按 6.3.1.4 测定蛋白质和灰分。

6.3.3　可溶性膳食纤维（SDF）测定

6.3.3.1　计算滤液体积：将不溶性膳食纤维过滤后的滤液收集到 600mL 高型烧杯中，通过称量"烧杯+滤液"总重，扣除烧杯重量的方法估算滤液体积。

6.3.3.2　沉淀：按滤液体积加入 4 倍量预热至 60℃的 95%乙醇，室温下沉淀 1h。以下测定按总膳食纤维测定步骤 6.3.1.2 至 6.3.1.4 进行。

6.4　分析结果的表述

TDF、IDF、SDF 均采公式（1）、公式（2）计算。

试样中空白质量按公式（1）计算：

$$m_B = \frac{m_{BR1} + m_{BR2}}{2} - m_{PB} - m_{AB} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

m_B——试剂空白质量，单位为克（g）；

m_{BR1} 和 m_{BR2}——双份试剂空白的残渣质量，单位为克（g）；

m_{PB}——试剂空白残渣中蛋白质质量，单位为克（g）；

m_{AB}——试剂空白残渣中灰分质量，单位为克（g）。

试样中膳食纤维的含量按公式（2）计算，

$$X=\frac{\frac{m_{R1}+m_{R2}}{2}-m_P-m_A-m_B}{\frac{m_1+m_2}{2}\times f} \quad \cdots\cdots（2）$$

$$f=\frac{m_C}{m_D} \quad \cdots\cdots（3）$$

式中：

X—— 试样中膳食纤维的含量，单位为克每百克（g/100g）；

m_{R1} 和 m_{R2}——双份试样残渣的质量，单位为克（g）；

m_P——试样残渣中蛋白质质量，单位为克（g）；

m_A——试样残渣中灰分质量，单位为克（g）；

m_B——试剂空白质量，单位为克（g）；

m_1 和 m_2——测定时双份试样取样质量，单位为克（g）；

f——试样制备时因干燥、脱脂、脱糖导致质量变化的校正因子；

m_C——试样制备前质量，单位为克（g）；

m_D——试样制备后质量，单位为克（g）。

注 5：

1. 如果试样没有经过干燥、脱脂、脱糖等处理，f=1；

2. TDF 的测定可以按照 6.3.1 进行独立检测，也可分别按照 6.3.2 和 6.3.3 测定 IDF 和 SDF，根据公式计算：TDF=IDF+SDF。

3. 当试样中添加了符合膳食纤维定义但不能被酶重量法检出的膳食纤维时，如抗性麦芽糊精、果寡糖、低聚半乳糖、聚葡萄糖、抗性淀粉，宜采用适宜方法测定相应的单体成分；如必要，总膳食纤维也可采用如下公式计算。

总膳食纤维 = TDF（酶重量法）+单体成分

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

6.5 允许差

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

第二法 不溶性膳食纤维的测定（中性洗涤剂法）

7 原理

在中性洗涤剂的消化作用下，试样中的糖、淀粉、蛋白质、果胶等物质被溶解除去，不能消化的残渣为不溶性膳食纤维。

采用中性洗涤剂法测定的不溶性膳食纤维主要包括纤维素、半纤维素、木质素、角质等，以及二氧化硅和不溶性灰分。

8 试剂和材料

8.1 试剂

8.1.1 无水亚硫酸钠（Na_2SO_3）。
8.1.2 乙二胺四乙酸二钠（$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$ ，EDTA 二钠盐）。
8.1.3 四硼酸钠（$Na_2B_4O_7·10H_2O$）。
8.1.4 磷酸二氢钠（NaH_2PO_4 ）。
8.1.5 磷酸氢二钠（（Na_2HPO_4 ）。
8.1.6 十二烷基硫酸钠（$C_{12}H_{25}SO_4Na$ ）。
8.1.7 磷酸（H_3PO_4)。
8.1.8 丙酮（CH_3COCH_3）。
8.1.9 石油醚：沸程 30℃～60℃。
8.1.10 甲苯（$CH_3C_7H_9$）。
8.1.11 乙二醇独乙醚（$C_4H_{10}O_2$）。
8.1.12 α-淀粉酶。
8.1.13 耐热玻璃棉：耐热 130℃，并不易折断。

8.2 试剂配制

8.2.1 中性洗涤剂溶液：将 18.61g EDTA 二钠盐和 6.81g 四硼酸钠置于烧杯中，加水约 150 mL，加热使之溶解；将 30 g 十二烷基硫酸钠和 10 mL 乙二醇独乙醚溶于约 700mL 热水中，合并两种溶液；另将 4.56g 磷酸氢二钠溶于 150 mL 热水中，再并入上述溶液中。用磷酸调节上述混合液至 pH 6.9～7.1，最后加水至 1000 mL，混匀备用。

注：如果溶液在储存过程中出现沉淀，可加热至 60 °C 溶解沉淀 。

8.2.2 0.1mol/L 磷酸氢二钠：称取 14.2g 磷酸氢二钠溶于 100 mL 水中。
8.2.3 0.1mol/L 磷酸二氢钠：称取 12.0 磷酸二氢钠溶于 100 mL 水中。
8.2.4 磷酸盐缓冲液：将 38.7 mL 0.1 mol/L 磷酸氢二钠与 61.3 mL0.1mol/L 磷酸二氢钠混合，pH 为 7.0。
8.2.5 2.5%α-淀粉酶液：称取 2.5gα-淀粉酶溶于 100 mL 磷酸盐缓冲溶液中，离心，过滤，收集滤液备用。

9 仪器和设备

9.1 天平：感量为 0.1 mg。

9.2 电烘箱：110～130 ℃。

9.3 恒温培养箱：37±2 ℃。

9.4 纤维测定仪。如没有纤维测定仪，可由下列部件组成：

9.4.1 电热板：带控温装置。
9.4.2 高型无导流口烧杯：600mL。
9.4.3 坩埚式玻璃滤器：耐酸，容量 60 mL，滤板孔径 40～60 m。
9.4.4 回流冷凝装置。
9.4.5 抽滤装置：由抽滤瓶、抽滤垫及水泵组成。

9.5 pH 计：精度为 0.01。

9.6 标准筛：铜丝，筛板孔径为 0.5～0.6 mm。

10 分析步骤

10.1 试样制备

若试样水分含量较低（小于 10%），试样去除灰尘、杂质后，直接混匀粉碎过筛，充分混匀，储于塑料瓶内，放一小包樟脑精，盖紧瓶塞保存，备用。若试样水分含量较高，将试样混匀后于 70℃真空干燥过夜，然后置干燥器中冷却。若试样不能加热，则采取冷冻干燥法。干燥样品粉碎过筛，存放于干燥器中待用。记录因干燥造成的试样损失，最后在计算膳食纤维含量时进行校正。

10.2 测定步骤

10.2.1 试样处理：准确称取制备好的试样 0.5g～1.0 g （m），精确至 0.1 mg，置高型无导流口烧杯中。若试样脂肪含量超过 10%，需先去除脂肪，每克试样用 25 mL 石油醚分 3 次浸提，每次浸提振摇 1 min，静置 5 min，重复 3 次后倾出上清液。反复操作，最后一次倾出上清液后将烧饼置于通风橱内挥发残留石油醚。

10.2.2 试样消化：加 100 mL 中性洗涤剂溶液，再加 0.5 g 无水硫酸钠，盖上玻璃皿，放到预热的电热板上加热，使其 5 min～10min 内煮沸，调节电热板温度，使试样液保持微沸 1h。

10.2.3 滤器准备：取玻璃滤器，内铺 1g～3 g 玻璃棉，移至 110℃烘箱内，烘 4 h，取出置干燥器中冷却至室温，称重，复烘至恒重，得到玻璃滤器和玻璃棉的质量（m_1），精确至 0.1 mg。

10.2.4 样液过滤：将准备好的玻璃滤器连接于抽滤装置，将煮沸后样液趁热倒入玻璃滤器，抽滤。用 500 mL 90～100℃热水，分数次洗烧杯、玻璃滤器、试样残渣，抽滤去水。洗净滤器下部的液体和泡沫，塞上橡皮塞。

10.2.5 酶解：向玻璃滤器中加入约 50 ml 2.5% α-淀粉酶溶液，保证液面完全覆盖玻璃纤维和试样残渣，用细针挤压掉其中气泡，加几滴甲苯，盖上玻璃表面皿，37℃ ±2℃恒温培养箱中过夜

10.2.6 抽干洗涤：取出玻璃滤器，除去底部塞子，将其连接于抽滤装置，抽滤去除酶液，并用 300 mL90～100℃热水分数次洗去残留酶液。用碘液检查是否有淀粉残留，如有残留，重复 11.2.5，继续加酶水解，至淀粉除尽。抽干试样，用大约 30-50 mL 丙酮分 2 次清洗，抽干。

10.2.7 烘干称重：将洗涤后的玻璃滤器置烘箱中，110℃烘 4 h，取出，置干燥器中冷却至室温，称重，复烘至恒重，得到试样残留物、玻璃滤器和玻璃棉的质量（m_2），精确至 0.1 mg。

注：以上步骤也可采用纤维测定仪进行操作，除抽滤外，其他步骤基本相同。

10.3 分析结果的表述

$$X = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (4)$$

式中：X── 试样中不溶性膳食纤维的含量，单位为克每百克（g/100g)；

m_1── 玻璃滤器加玻璃棉的质量，单位为克（g）；

m_2── 玻璃滤器加玻璃棉及试样残渣的质量，单位为克（g）；

m── 试样称样量，单位为（g）。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

注：如果采用中性洗涤剂法测定不溶性膳食纤维，需在结果中注明 NDF，如不溶性膳食纤维（NDF)×××g/100g。

10.4 允许差

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10 %。

附　录　A

（规范性附录）

淀粉酶、蛋白酶、淀粉葡萄糖苷酶的活性要求、测定方法及判定标准

A.1 酶活性要求及测定方法

A.1.1 淀粉酶

A.1.1.1 以淀粉为底物，用 *Nelson/Somogyi* 还原糖测试的淀粉酶活性：（10000+1000）U/mL。

[1 酶活性单位（U）定义为：40℃，pH 6.5 时，每分钟释放 1 μmol 还原糖所需要的酶量]。

A.1.1.2 以对硝基苯基麦芽糖为底物测试的淀粉酶活性：（3000 +300）Ceralpha U/mL

[1 酶活性单位（Ceralpha U）定义为：40℃，pH 6.5 时，每分钟释放 1 μmol 对硝基苯基所需要的酶量]。

A .1.2 蛋白酶

A.1.2.1 以酪蛋白测试的蛋白酶活性：300U/ml～400U/mL［1 酶活性单位（U）定义为：40℃，pH 8.0 时，每分钟从可溶性酪蛋白中水解出（并溶于三氯乙酸）1 μmol 酪氨酸所需要的酶量]；或 7 U/mg～15 U/mg[1 酶活性单位（U）定义为：37℃，pH 7.5 时，每分钟从酪蛋白中水解得到一定量的酪氨酸（相当于 1.0 μmol 酪氨酸在显色反应中所引起的颜色变化，显色用 Folin-Ciocalteau 试剂）时所需要的酶量]。

A.1.2.2 以偶氮－酪蛋白测试的蛋白酶活性：300 U/mL～400 U/mL

［1 内肽酶活性单位（U）定义为：40℃，pH 8.0 时，每分钟从可溶性酪蛋白中水解出（并溶于三氯乙酸）1 μmol 酪氨酸所需要的酶量］。

A .1.3 淀粉葡萄糖苷酶

A .1.3.1 以淀粉/葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法测试的淀粉葡萄糖苷酶活性：2000 U/mL～3300 U/mL

[1 个酶活性单位（U）定义为：40℃，pH 4.5 时，每 min 释放 1 μmol 葡萄糖所需要的酶量]。

A1.3.2 以对-硝基苯基-β-麦芽糖苷（PNPBM）法测试的淀粉葡萄糖苷酶活性：130 PNP U/mL～200 PNP U/mL。

[1 酶活性单位定义（PNP U）为：40℃时，有过量的 β-葡萄糖苷酶存在下，每分钟从对-硝基苯基-β-麦芽糖苷释放 1 μmol 对-硝基苯基所需要的酶量]。

A .2 酶干扰

市售热稳定 α-淀粉酶、蛋白酶一般不易受到其他酶的干扰，蛋白酶制备时可能会混入极低含量的 β-葡聚糖酶，但不会影响总膳食纤维测定。本法中淀粉葡萄糖苷酶易受污染，是活性易受干扰的酶。淀粉葡萄糖苷酶的主要污染物为内纤维素酶，能够导致燕麦或大麦中 β-葡聚糖内部混合键解聚。淀粉葡萄糖苷酶是否受内纤维素酶的污染很容易检测。

A.3 判定标准

当酶的生产批次改变或最长使用间隔超过 6 个月时，应按表 A.1 所列标准物进行校准，以确保所使用的酶达到预期的活性，不受其它酶的干扰。

表 A.1　　酶活性测定标准

底物标准	测试活性	标准质量，g	预期回收率，%
柑橘果胶	果胶酶	0.1-0.2	95-100
阿拉伯半乳聚糖	半纤维素酶	0.1-0.2	95-100
β-葡聚糖	β-葡聚糖酶	0.1-0.2	95-100
小麦淀粉	α-淀粉酶+淀粉葡萄糖苷酶	1.0	0-1
玉米淀粉	α-淀粉酶+淀粉葡萄糖苷酶	1.0	0-1
酪蛋白	蛋白酶	0.3	0-1